

ВИВЧЕННЯ РОЛІ КЛІТИННИХ РЕЦЕПТОРІВ В РЕГУЛЯЦІЇ ГЕННОЇ ЕКСПРЕСІЇ

А. Ю. КАЧАНОВА¹, О. М. КЛІМОВА²

¹ *магістрант кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА*

² *професор кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, канд. біол. наук, НТУ «ХПІ», Харків, УКРАЇНА*

**email: annka2009@gmail.com*

Біотехнологія – міждисциплінарна галузь, яка вивчає та розробляє методи отримання корисних для людства цільових продуктів за допомогою біологічних об'єктів. Перспективним напрямом є розробка лікарських засобів для протидії зростанню злоякісних новоутворень в організмі людини. Одним із факторів впливу є зміна рівня фактора росту ендотелію судин (VEGF), що призводить до значного зменшення утворення антигенпрезентуючих клітин (АПК) з попередників, які відрізняються зниженням експресії таких клітинних рецепторів як CD86, CD25, CD54, HLA-DR і CD11b і, як наслідок, до утворення злоякісних пухлин. Окрім цього VEGF посилює проліферацію і диференціювання ендотеліальних клітин, бере участь в розвитку серцево-судинної системи в ембріогенезі і підвищує судинну проникливість [1].

VEGF – димерний глікопротеїн, один з членів сімейства структурно близьких між собою білків, здійснює свою функцію за допомогою своїх рецепторів. Є три типи рецепторів VEGF – VEGFR-1, VEGFR-2 і VEGFR-3, що належать до сімейства рецепторів тирозинкінази. Відомі чотири основні ізоформи VEGF – VEGF (121), VEGF (165), VEGF (189) і VEGF (206). Вони розрізняються величиною поліпептидного ланцюга і складаються відповідно з 121, 165, 189 і 206 амінокислот. Ізоформи утворюються в результаті альтернативного сплайсингу первинних транскриптів іРНК. У нормальних клітинах переважно виявляється ізоформа VEGF (165). Рецептори VEGF локалізуються переважно в ендотеліальних клітинах і беруть участь в регуляції ангіогенезу, стабілізації утворених знову судин, зміні їх проникності і дилатації. VEGFR-1 регулює ангіогенез, вловлюючи ліганд, що веде до гомо- або гетеродимеризації рецептора, тоді як VEGFR-2 при взаємодії з лігандом фосфорилує і активізує ангіогенез, стимулюючи різні сигнальні шляхи усередині клітини. VEGFR-1 і VEGFR-2 у меншій кількості експресуються стовбуровими гемопоетичними клітинами, мегакаріоцитами, моноцитами, нейронами і раковими клітинами, обумовлюючи позасудинні ефекти VEGF [2]. Тому важливою є проблема отримання цільових продуктів, що активують експресію CD на антигенпрезентуючих клітинах.

Метою роботи була розробка основних етапів оптимального технологічного регламенту отримання генно-інженерної конструкції VEGF-

ІБМед, що кодує фактор росту ендотелію судин. На моделі міжклітинних взаємодій вивчена дія VEGF на експресію CD на антигенпрезентуючих клітинах *in vivo*.

Генно-інженерна конструкція VEGF-ІБМед представляє собою експресійну векторну плазмиду, в якій клонована вставка ДНК, що кодує фактор росту ендотелію судин у трьох його формах. Для конструкції використано оригінальний еукаріотичний човниковий експресійний вектор, заснований на плазміді рUC-19. Вектор містить ділянку промотор/енхансер CMV і ділянку сплайсинг/поліаденілювання SV40. Прототипом цієї векторної плазмиди є плазміда рВКСMV. Вставка – кДНК для VEGF людини (189, 165 і 121 амінокислота) [3].

Одним з завдань було визначення біологічної доступності та активності конструкції за допомогою непрямой реакції імунофлуоресценції (табл. 1).

Таблиця 1 – Результати кількісного аналізу експресії CD, які отримані при проведенні імунофлуоресцентного аналізу

CD-маркер	Референтні значення	Перша група	Друга група
CD11b	20,0 ± 9,0	9,0 ± 3,0	31,0 ± 1,0
CD14	0	-	25,0 ± 3,0
CD54	22,0 ± 8,0	10,0 ± 1,0	30,0 ± 3,0
CD80	31,0 ± 12,0	15,0 ± 4,0	46,0 ± 2,0
HLA-DR	14,0 ± 7,0	4,0 ± 2,0	23,0 ± 1,0

В першій групі використовувалася сироватка крові збіднена VEGF, а в другій групі – сироватка крові збагачена VEGF. В першій групі спостерігаємо зниження експресії CD на лімфоцитах в порівнянні з референтними значеннями, а в другій – підвищення рівня експресії, що говорить про достатню активність і біодоступність фактора росту ендотелію судин VEGF у середовищі клітин периферичної крові людини.

Проведення дослідницької роботи є доцільним тому, що зараз активно розробляються лікарські засоби, що містять генетичний матеріал, для лікування різних захворювань людини, таких як злоякісні новоутворення.

Список літератури:

1. Качанова, А.Ю. Роль клітинних рецепторів в регуляції експресії генів : дипл. робота / А.Ю. Качанова. – Харків. – 2017. – 73 с.
2. Мангилёва, Т.А. Система сосудистого эндотелиального фактора роста и артериальная гипертензия / Т.А. Мангилёва // Серце і судини. – 2012. – № 4. – С. 107 – 115.
3. Пат. 2297848 Росс. Федерация МПК А 61 К 48/00, С 12 N 15/85, А 61 Р 9/14. Генно-инженерная конструкция VEGF-ИБМЕД (VEGF-IBMed) / А.В. Иткес, С.Л. Киселев; заявитель и патентообладатель А.В. Иткес. – №2005113934/15; заявл. 11.05.2005; опубл. 27.04.2007.